
161

**DETERMINAZIONI VIRALI QUANTITATIVE
MEDIANTE "PCR REAL TIME" CON IL SISTEMA
"ROTOR GENE™"**

Marin M.G.; Turconi P.; Poma F.; Calamani F.; Guarneri P.;
Berardi L.; Lattuada L.

Centro Analisi FlemingLabs, Via Orzinuovi 111, 25125 Brescia

Introduzione. Il sistema Rotor-Gene™ è noto per essere lo strumento per *Real Time PCR* con caratteristiche ottiche e termiche tali da fornire risultati con estrema precisione e riproducibilità ed in un ampio intervallo di linearità. Scopo del lavoro è stato quello di valutare sia le potenzialità tecniche per determinazioni virali quantitative sia l'impatto laboratoristico.

Metodi. Sullo strumento Rotor-Gene™ (Corbett Research, Australia) sono stati testati kit forniti da Artus GmbH (Hamburg, Germany) per determinazioni quantitative di genomi virali (HCV, HBV, CMV, Parvovirus B19, HIV), costituiti da una Master-Mix specifica, da calibratori o standard di quantificazione e da un controllo interno (sequenza nucleotidica eterologa). Il DNA/RNA dei campioni biologici (siero, plasma, urine, sangue) è stato estratto con kit forniti da QIAGEN (QIAamp DNA/ Viral RNA Mini Kit).

Sono state valutate la sensibilità su diluizioni seriali dei campioni e dei calibratori, la riproducibilità sui replicati, la variabilità intra-assay ed inter-assay del Ct (ciclo soglia) del controllo interno e degli standard, la specificità e la sensibilità rispetto alla *PCR Nested*.

Risultati. Il sistema ha permesso di quantificare i campioni,

in un ampiorange dinamico lineare, con elevate specificità e riproducibilità, una bassa variabilità sia intra che inter-assay ($CV < 10\%$), una sensibilità analitica equivalente o maggiore rispetto alla PCR classica o alla PCR *nested*.

Conclusioni. Il sistema Rotor-Gene™ ha dimostrato ottime performance per il rilevamento e la quantificazione di target virali (sia a DNA che a RNA) e si è rivelato particolarmente adatto all'applicazione della *Real Time PCR* nel laboratorio di diagnostica molecolare, grazie alla facilità di utilizzo e alla rapidità dei tempi di esecuzione.
